کیت سنجش AMH به روش الایزا

حیطه کاربرد:

این کیت جهت اندازه گیری کمی مقدار آنالیت AMH در نمونه سرم انسان بکار می رود.

مقدمه:

Anti Mullerian Hormone (AMH) یک گلیکوپروتئین هومودایمر است که زیرواحدهای آن توسط پل های دی سولفیدی به هم متصل شده اند . این هورمون توسط بافت بیضه در اوایل رشد جنین پسر تولید می شود و سبب رشد اندام های جنسی مردانه می شود، در حالیکه مانع از رشد اندام جنسی زنانه می گردد. AMH در نوزادان پسر بالا است و تا ۲ سالگی بالا می ماند و سپس بتدریج کاهش می‌یابد و در سن بلوغ به میزان حداقل خود می رسد.

AMH در زنان هورمونی است که توسط فولیکول های در حال رشد (حاوی تخمک) تولید می شود، از این رو شاخص مناسبی برای تعداد و کیفیت تخمک های در حال تولید در چرخه قاعدگی محسوب می شود.

AMH بر خلافFSH ، Inhibin B و استرادیول در تمام طول سیکل قاعدگی ثابت است ، از این رو ، انجام این تست در هر زمان از این دوره امکان پذیر است.

AMH همچنین تحت تأثیر گونادوتروپین ها قرار نمی گیرد و صرفاً بازتابی از جمعیت فولیکولها می باشد (ذخیره فولیکولی تخمدانی).

AMH در ارزیابی قدرت باروری زنانی که با خطر کاهش ذخیره فولیکولی تخمدان روبرو هستند کمک کننده است، از جمله زنان با تخمدان پلی کیستیک یا دارای سابقه خانوادگی یائسگی زودرس (نارسایی تخمدان)، زنان دارای سابقه آندومتریوز شدید، شیمی درمانی یا جراحی قبلی بر روی تخمدان، زنان مبتلا به بیماریهای اتوایمیون، عفونت لگن، و زنانی که از رژیم های گیاهخواری استفاده می کنند.

بطور کلی اندازه گیری AMH یکی از راهکارهای مهم در ارزیابی مشکلات ناباروری است . همچنین سطح بالای هورمون AMH شانس درمان موفقیت آمیز به روش IVF را به طور قابل توجهی بالا می برد.

اساس آزمایش :

اساس این کیت به روش ساندویچ و با استفاده از آنتی بادیهای مونوکلونال می باشد . در این روش چاهکها توسط آنتی بادیهایی علیه یک شاخص آنتی ژنیک مولکول AMH پوشش داده می شوند (Coating) . نمونه بیماران در ابتدا با آنتی بادی پوشش داده شده در ته چاهکها مجاور می شوند پس از انکوباسیون و شستشو آنتی بادی ثانویه ضد AMH متصل به آنزیم HRP به چاهک ها اضافه می شود . مقدار کمپلکس ایمنی تشکیل شده در چاهکها با غلظت AMH در نمونه ها متناسب است . پس از شستشو ، محلول رنگزا که دارای هیدروژن پراکسید (H_2O_2) وکروموژن است به داخل چاهکها ریخته می شود . رنگ آبی پدید آمده متناسب است با کمپلکس ایمنی تشکیل شده در چاهکها. با افزودن محلول متوقف کننده ، رنگ آبی به زرد تبدیل می شود که بهترین جذب نوری را در طول موج ۴۵۰ نانومتر دارد .

محتویات کیت :

۱) پلیت حاوی چاهکهای پوشش داده شده با آنتی بادی ضد AMH (Anti- AMH Coated Plate) .

۲) سری استانداردها (Standards Set) : شامل ۷ ویال استاندارد آماده مصرف حاوی آنالیت AMH با غلظتهای ۰، ۰/۵ , ۱ ،۲/۵، ۵ ،۱۰و ۲۰ ng/ml در بافر حاوی پروتئین به عنوان پایدار کننده و تیومرسال به عنوان نگهدارنده.

۳) محلول اسی بافر(Assay buffer) :محلول آماده مصرف حاوی پروتئین به عنوان پایدار کننده و تیومرسال به عنوان نگهدارنده.

۴) محلول آنزیم کونژوگه (AMH Enzyme Conjugate) : محلول آماده مصرف حاوی آنتی بادی منوکلونال ضد AMH لیبل شده با آنزیم HRP و پروتئین به عنوان پایدار کننده و تیومرسال به عنوان نگهدارنده.

۵) سرم کنترل ها (Control Serum) : حاوی سرم کنترل پایین و بالا آماده مصرف با غلظت مشخص درج شده بر روی برچسب ویال .

۶) محلول رنگزای یک مرحله ای (Chromogen-Substrate) : حاوی محلول رنگزای یک مرحله ای آماده مصرف.

۷) محلول شستشو (Wash Solution) : محلول شستشوی غلیظ (۲۰X) . جهت تهیه محلول شستشوی آماده مصرف ، مقدار مورد نیاز را با آب مقطر به نسبت ۱/۲۰ رقیق نمایید .

۸) محلول متوقف کننده (Stop Solution) :حاوی اسید کلریدریک ۱ نرمال.

۹) برچسب مخصوص پلیت .

مواد و وسایل مورد نیاز که در کیت موجود نمی باشند :

۱) دستگاه الایزاریدر با طول موج ۴۵۰ نانومتر و در صورت امکان ۶۳۰ نانومتر

۲) سمپلرهای ۵۰ و ۱۰۰ میکرولیتر دقیق .

۳) دستکش یکبار مصرف

۴)کاغذ جاذب رطوبت

۵) آب مقطر

۶) دستگاه انکوباتور ۳۷ درجه سانتی گراد

۷) زمان سنج

تهران، شهرک گلستان، بلوار گلها، خیابان یاس سوم، نبش خیابان یاسمن ، پلاک۱، کد پستی ۱۴۹۴۷۳۴۴۶۳
تلفن ۴۲۱۹۷۰۰۰ (خط ویژه) فکس ۴۲۱۹۷۰۰۷
sms 300071402 info@pishtazteb.com www.pishtazteb.com

ویرایش دوم – اسفند ۹۸

نکات قابل ذکر برای مصرف کنندگان :

۱) محتویات این کیت برای مصرف در همین کیت تعبیه شده است .
۲) از مخلوط کردن محتویات کیتها با شماره ساختهای مختلف جداً خودداری نمایید .
۳) کلیه مواد موجود در کیت که منشاء سرمی دارند از نظر وجود HBsAg و آنتی بادی های ضد HCV و HIV کنترل گردیده اند و فاقد این عوامل می باشند ، با این وجود هر آزمایشگری که با کیت کار می کند باید از تماس مستقیم با مواد بپرهیزد .
۴) نمونه بیماران، استانداردها ، کنترل ها و چاهک های استفاده شده، باید به عنوان پسماندهای عفونی در نظر گرفته شوند. تمام محلول های واکنش گر و معرف ها باید مطابق با مقررات ملی دفع پسماندهای عفونی امحاء شوند.

شرایط نگهداری :

۱) کیت را در یخچال بین دمای ۲ تا ۸ درجه سانتی گراد نگهداری نمایید .
۲) چاهکها را در کیسه مخصوص پلیت همراه با نمگیر نگهداری نمایید .
۳) پایداری محتویات کیت تا پایان مدت انقضاء نوشته شده بر روی هر یک از آنها می باشد .
۴) محلول شستشوی آماده مصرف که به نسبت ۱/۲۰ با آب مقطر رقیق شده باشد به مدت یک هفته در شرایط ۸-۲ درجه سانتی گراد قابل نگهداری و مصرف می باشد .

جمع آوری و آماده سازی نمونه :

سرم را می توان پس از جدا نمودن از خون استفاده نمود ، نمونه را می توان به مدت یک روز در دمای ۲ تا ۸ درجه سانتی گراد، یا برای حداکثر یک هفته در دمای ۲۰- درجه سانتی گراد و یا برای مدت زمان طولانی تر در دمای ۸۰- درجه سانتی گراد نگهداری نمود (در ضمن باید از Freeze-thaw نمودن نمونه پرهیز شود).

توضیحات عمومی :

۱) قبل از شروع مراحل آزمایش تمام مواد و نمونه ها را به درجه حرارت اتاق رسانده و بخوبی تکان دهید تا کاملاً یکنواخت شوند .
۲) بهتر است پس از شروع آزمایش کلیه مراحل بدون توقف انجام پذیرند .
۳) از نوک سمپلر یک بار مصرف برای هر نمونه استفاده کنید .
۴) پس از افزودن محلول متوقف کننده ، جذب نوری چاهکها حداکثر تا نیم ساعت قابل قرائت می باشد .
۵) برای کسب نتایج مطلوب باید شستشوی چاهکها بصورت کامل صورت گرفته و آخرین قطرات پس از شستشو از چاهکها تخلیه شوند .
۶) از مهمترین فاکتورها در حصول نتیجه مطلوب ، زمان انکوباسیون مناسب می باشد ، بنابراین پیشنهاد می گردد قبل از شروع آزمایش تمام مواد و محلولهای مورد نیاز را آماده نموده و درب محلولهای مورد نیاز را باز کنید ، این عمل با کاهش فاصله زمانی بین مراحل سمپلینگ باعث نتایج دقیق تری می شود .
۷) به دلیل مشابه در بند ۶ بهتر است که حجم انجام تست محدود باشد و زمان ریختن نمونه ها بیش از ۵ دقیقه بطول نیانجامد .

مراحل انجام آزمایش :

۱) تعداد چاهکهای مورد نظر را انتخاب نموده و سایر چاهکها را به همراه نمگیر درون کیسه مخصوص نگهداری پلیت قرار داده و درب آن را ببندید .
۲) ابتدا مقدار ۵۰ میکرولیتر از هر استاندارد ، سرم کنترل و نمونه را به داخل هر چاهک بریزید (پیشنهاد می گردد که از استانداردها و نمونه ها بصورت داپلیکیت استفاده شود بدین معنی که هر استاندارد و نمونه را در دو چاهک بریزید و در انتها از میانگین جذب نوری آنها برای محاسبه نتایج استفاده کنید) .
۳) سپس مقدار ۵۰ میکرولیتر از محلول اسی بافر (Assay Buffer) را به همه چاهک ها اضافه نمایید. پلیت را به آرامی به مدت ۳۰ ثانیه تکان دهید تا محتویات آن بخوبی مخلوط شوند.
۴) درب چاهکها را با برچسب مخصوص پلیت پوشانده و چاهکها را به مدت ۶۰ دقیقه در انکوباتور ۳۷ درجه سانتی گراد قرار دهید .
۵) محتویات چاهکها را خالی کرده و چاهکها را ۵ بار با محلول شستشوی آماده مصرف بشویید (برای شستشو می توان از سمپلر ۸ کاناله استفاده نمود ولی باید مواظب بود که محلول شستشو از یک چاهک به چاهک دیگر وارد نشود زیرا می تواند موجب ایجاد خطا در نتیجه آزمایش گردد ، در هر دفعه شستشو حدود ۳۰۰ میکرولیتر محلول شستشو در هر چاهک ریخته و سپس چاهک ها را با وارونه کردن و تکاندن خالی نمایید و در انتهای عملیات شستشو چاهکها را در حالت وارونه و با ضربات ملایم بر روی یک پارچه یا کاغذ نمگیر بکوبید تا قطرات اضافی محلول شستشو خارج شوند) .
۶) سپس مقدار ۱۰۰ میکرولیتر از محلول آنزیم کونژوگه (Enzyme Conjugate) را به همه چاهک ها اضافه نمایید
۷) درب چاهکها را با برچسب مخصوص پلیت پوشانده و چاهکها را به مدت ۶۰ دقیقه در انکوباتور ۳۷ درجه سانتی گراد قرار دهید .
۸) محتویات چاهکها را خالی کرده و چاهکها را ۵ بار با محلول شستشوی آماده مصرف بشویید (برای شستشو می توان از سمپلر ۸ کاناله استفاده نمود ولی باید مواظب بود که محلول شستشو از یک چاهک به چاهک دیگر وارد نشود زیرا می تواند موجب ایجاد خطا در نتیجه آزمایش گردد ، در هر دفعه شستشو حدود ۳۰۰ میکرولیتر محلول

تهران، شهرک گلستان، بلوار گلها، خیابان یاس سوم، نبش خیابان یاسمن ، پلاک۱، کد پستی ۱۴۹۴۷۳۴۴۶۳
تلفن ۴۲۱۹۷۰۰۰ (خط ویژه) فکس ۴۲۱۹۷۰۰۷
sms 300071402 info@pishtazteb.com www.pishtazteb.com
ویرایش دوم – اسفند ۹۸

شستشو در هر چاهک ریخته و سپس چاهک ها را با وارونه کردن و تکاندن خالی نمایید و در انتهای عملیات شستشو چاهکها را در حالت وارونه و با ضربات ملایم بر روی یک پارچه یا کاغذ نمگیر بکوبید تا قطرات اضافی محلول شستشو خارج شوند) .

۹) ۱۰۰ میکرولیتر محلول رنگزا (Chromogen-Substrate) به هر چاهک اضافه نمایید .

۱۰) چاهکها را به مدت ۱۵ دقیقه در درجه حرارت اتاق و در تاریکی قرار دهید .

۱۱) با اضافه کردن ۱۰۰ میکرولیتر محلول متوقف کننده (Stop Solution) به هر چاهک ادامه واکنشهای آنزیمی را متوقف نمایید . برای سنجش جذب نوری هر چاهک حداکثر ظرف مدت ۳۰ دقیقه از دستگاه خوانشگر الایزاریدر با فیلتر ۴۵۰ nm استفاده نمایید . (توصیه می شود از فیلتر ۶۳۰ nm به عنوان فیلتر رفرانس استفاده گردد) .

محاسبه نتایج :

از هر دستگاه الایزاریدر با قابلیت سنجش جذب نوری در طول موج ۴۵۰ nm میتوان استفاده نمود .

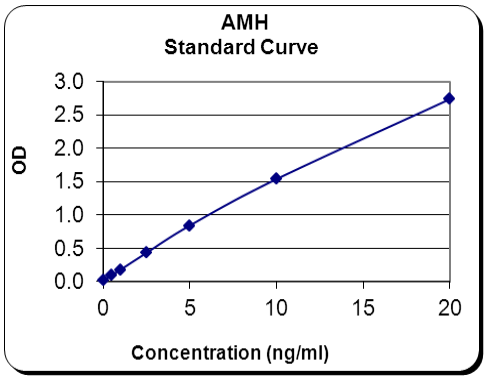
۱) جذب نوری استانداردها و نمونه ها را به کمک دستگاه الایزاریدر در طول موج ۴۵۰ nm (و در صورت امکان در مقابل فیلتر رفرانس ۶۳۰ nm) بخوانید .

۲) با استفاده از میانگین جذب نوری استانداردها و غلظت معلوم آنها نموداری (Point to point) رسم کنید به این صورت که جذب نوری استانداردها را روی محور عمودی (Y) و غلظت آنها را روی محور افقی (X) برده و نقطه تلاقی غلظت و جذب نوری را برای هر استاندارد بدست آورید ، سپس نقاط بدست آمده را به یکدیگر وصل نمایید تا منحنی بدست آید .

۳) میانگین جذب نوری برای هر نمونه را بدست آورده و روی محور عمودی جای آن را پیدا کنید ، سپس نقطه مذکور را توسط خطی به منحنی وصل نمایید بطوریکه این خط بر محور عمودی کاملاً عمود باشد و بعد از محل تلاقی خط و منحنی ، خطی عمود بر محور افقی وارد کنید نقطه تلاقی این خط با محور افقی مقدار غلظت را نشان خواهد داد .

۴) اگر نمونه های مورد آزمایش نتایجی بالاتر از آخرین استاندارد را نشان دادند ، غلظت AMH باید بصورت بیشتر از ۲۰ نانوگرم در میلی لیتر گزارش شود.

استانداردها (ng/ml)	جذب نوری
۰	۰/۰۱۷
۰/۵	۰/۱
۱	۰/۱۸
۲/۵	۰/٤۳٤
۵	۰/۸٤۳
۱۰	۱/٥٤
۲۰	۲/۷٤



توجه : جذبهای نوری و منحنی مربوطه فقط به عنوان نمونه می باشد و هر آزمایشگاه در هر دفعه انجام آزمایش باید منحنی جدیدی رسم نماید.

مقادیر مورد انتظار :

مقادیر نرمال AMH در سرم افراد طبیعی که توسط تستهای مکرر به روش الایزا بدست آمده به قرار زیر می باشد ولی پیشنهاد می گردد که هر آزمایشگاه مقادیر نرمال خود را بدست آورد :

سن افراد	میانه (ng/ml)	محدوده طبیعی AMH(ng/ml)
زنان کمتر از ۱۰ سال	1.7	<0.08 – 10.6
زنان ۱۱ تا ۲۰ سال	3.3	0.62 – 10.9
زنان ۲۱ تا ۳۰ سال	3.8	< 0.08 -10.2
زنان ۳۱ تا ۴۰ سال	2.4	0.15 – 10.6
زنان ۴۱ تا ۵۰ سال	0.45	< 0.08 – 6.12
زنان بیش از ۵۱ سال	< 0.08	< 0.08 – 0.4
مردان ۱تا ۱۱ سال	121	39.1 – 330
مردان ۱۲تا ۲۰ سال	6.5	1.15 – 142
مردان بالغ	4.9	0.6 – 18.2

تهران، شهرک گلستان، بلوار گلها، خیابان یاس سوم، نبش خیابان یاسمن ، پلاک۱، کد پستی ۱۴۹۴۷۳۴۴۶۳
تلفن ۴۲۱۹۷۰۰۰ (خط ویژه) فکس ۴۲۱۹۷۰۰۷
sms 300071402 info@pishtazteb.com www.pishtazteb.com

ویرایش دوم – اسفند ۹۸

تبدیل واحد AMH :

جهت تبدیل واحد AMH می توانید از فرمول زیر استفاده نمایید.

ng/ml × 7.14= pmol/L

به عنوان مثال 5 ng/ml پس از اعمال فرمول مذکور 35.7 pmol/L می شود.

محدودیت های روش اندازه گیری:

سطوح سرمی AMH به تنهایی نباید ملاک تصمیم گیری برای بیمار باشد .

نتایج تست می بایست فقط همراه با سایر تست ها و روشهای تشخیصی مورد تفسیر قرار گیرد.

گاهی اوقات آنتی بادیهای هتروفیل که در نمونه سرم برخی از بیماران دیده می شوند، با وجود مواد بلاک کننده قوی ضد آنها در محلول های کیت، امکان تداخل دارند.

شاخصهای اجرایی :

۱) حداقل مقدار قابل اندازه گیری :

بر اساس جذب نوری استاندارد صفر و سه برابر انحراف معیار (SD) حداقل غلظت AMH قابل تشخیص در این کیت 0.08 ng/ml می باشد .

۲) دقت آزمایش :

آزمایشهای اینترا- اسی (همخوانی غلظت مشخص از یک نمونه در یک سری آزمایش) و اینتر- اسی (همخوانی غلظت مشخص از یک نمونه در سری آزمایشهای مختلف) با استفاده از ۳ سرم با غلظتهای مختلف AMH انجام گردید که در جداول ۱ و ۲ آمده است :

جدول شماره ۱ (اینترا- اسی) :

نمونه	تعداد دفعات تکرار تست	میانگین (ng/ml)	SD	CV%
۱	۲۰	۰/۷	۰/۰۶۱	۸/۷۱
۲	۲۰	۳/۳۵	۰/۲۴	۷/۱۶
۳	۲۰	۱۱/۸۱	۰/۷۵	۶/۳۵

جدول شماره ۲ (اینتر- اسی) :

نمونه	تعداد دفعات تکرار تست	میانگین (ng/ml)	SD	CV%
۱	۲۰	۰/۷۲	۰/۰۶۸	۹/۴۴
۲	۲۰	۳/۴۱	۰/۲۷	۷/۹۲
۳	۲۰	۱۱/۹۵	۰/۸۳	۶/۹۵

۳) صحت آزمایش :

جهت بررسی صحت آزمایش ؛ تست همبستگی بر اساس پروتوکل CLSI - EP9-A بطور همزمان بر روی ۵۰ عدد نمونه سرم در سطوح مختلف با کیت الایزای تجاری معتبر و کیت الایزای AMH شرکت پیشتاز طب انجام گردید .

که نتایج این بررسی‌ها همبستگی حدود ۹۹ درصد را نشان می دهد. $R^2 = 0.974$ ($y = 1.0094x - 0.0786$)

تهران، شهرک گلستان، بلوار گلها، خیابان یاس سوم، نبش خیابان یاسمن ، پلاک۱، کد پستی ۱۴۹۴۷۳۴۴۶۳
تلفن ۴۲۱۹۷۰۰۰ (خط ویژه) فکس ۴۲۱۹۷۰۰۷
sms 300071402 info@pishtazteb.com www.pishtazteb.com

ویرایش دوم – اسفند ۹۸

٤) ریکاوری آزمایش :

در این تست مقادیر سرمی معلوم از AMH به ۴ سرم با غلظتهای مشخص AMH افزوده شد و ریکاوری آنها محاسبه گردید که نتایج آن در جدول زیر آمده است :

نمونه	مقدارAMH موجود در سرم (ng/ml)	مقدارافزوده شده AMH (ng/ml)	مقدار مورد انتظار (ng/ml)	مقدار بدست آمده (ng/ml)	ریکاوری (%)
۱	۰/۹۱	۰/۵	۰/۷	۰/۶۵	۹۲/۸
۱	۰/۹۱	۵	۲/۹۵	۲/۸	۹۴/۹
۱	۰/۹۱	۱۰	۵/۴۵	۵/۵	۱۰۰
۲	۱/۸۵	۰/۵	۱/۱۷	۱/۱	۹۴
۲	۱/۸۵	۵	۳/۴۲	۳/۶	۱۰۵/۲
۲	۱/۸۵	۱۰	۵/۹۲	۵/۶۶	۹۵/۶
۳	۵/۴۳	۰/۵	۲/۹۶	۲/۸	۹۴/۶
۳	۵/۴۳	۵	۵/۲۱	۵/۳۵	۱۰۲/۷
۳	۵/۴۳	۱۰	۷/۷۱	۷/۸	۱۰۱/۱
۴	۱۰/۶	۰/۵	۵/۵۵	۵/۲	۹۳/۷
۴	۱۰/۶	۵	۷/۸	۷/۵	۹۶/۱
۴	۱۰/۶	۱۰	۱۰/۳	۱۰/۸	۱۰۴/۸

٥) خطی بودن آزمایش :

به کمک ماتریکس عاری از آنالیت (نمونه سرم در حد صفر) رقتهای متوالی ۴ نمونه سرم با غظت مشخص از AMH تهیه گردید و نتایج بر اساس ضریب رقت محاسبه شد که در جدول زیر نتایج آن آورده شده است :

نمونه	مقدار AMH موجود در سرم رقیق نشده (ng/ml)	ریکاوری (%)			
		رقت ۱/۲	رقت ۱/۴	رقت ۱/۸	رقت ۱/۱۶
۱	۱۴/۵	۱۰۲	۱۰۱	۱۰۶	۹۸
۲	۸/۶	۹۵	۹۸	۱۰۲	۱۰۹
۳	۳/۹	۱۰۷	۱۰۴	۹۵	۱۰۳
۴	۱/۷	۱۰۶	۹۲	۱۰۴	۹۱

٦) اختصاصیت آزمایش :

اختصاصیت این آزمایش به کمک سرمهایی با غلظتهای مختلف Activin A,Activin B, Activin AB,Inhibin A وInhibin B جهت بررسی واکنشهای متقاطع با AMH بررسی شد که نتایج آن در جدول ذیل آمده است .

جدول اختصاصیت (واکنش متقاطع) :

آنالیت	غلظت (ng/ml)	غلظت ظاهری AMH (ng/ml)
Inhibin A	۱۰۰	< ۰/۰۸
Inhibin B	۱۰۰	< ۰/۰۸
Activin A	۱۰۰	< ۰/۰۸
Activin B	۱۰۰	< ۰/۰۸
Activin AB	۱۰۰	< ۰/۰۸

تهران، شهرک گلستان، بلوار گلها، خیابان یاس سوم، نبش خیابان یاسمن ، پلاک۱، کد پستی ۱۴۹۴۷۳۴۴۶۳
تلفن ۴۲۱۹۷۰۰۰ (خط ویژه) فکس ۴۲۱۹۷۰۰۷
sms 300071402 info@pishtazteb.com www.pishtazteb.com

ویرایش دوم – اسفند ۹۸

۷) تست تداخل:

جهت بررسی میزان تاثیر عوامل مداخله گر بر روی نتایج سرمها پس از اینکه عوامل مداخله گر بالقوه (هموگلوبین ، تری گلیسرید و بیلی روبین) حداقل با دو برابر غلظت فیزیولوژیک آنها به ماتریکس نمونه سرم اضافه شد ، غلظتAMH با حالت قبل از افزودن عوامل مداخله گرمقایسه می گردد. این مطالعه با استفاده از راهنمای CLSI EP7-P انجام شد.

نتایج به دست آمده از تست تداخل در جدول ذیل آمده است:

آنالیت مداخله گر	غلظت آنالیت مداخله گر(ng/ml)	ارزش نمونه قبل از افزودن آنالیت مداخله گر(ng/ml)	ارزش نمونه بعد از افزودن آنالیت مداخله گر(ng/ml)	سوگرایی
هموگلوبین	1.8	8.22 11.37 4.12	8.12 11.52 4.21	-1.21 1.32 2.18
تری گلیسرید	11.1	8.22 11.37 4.12	8.33 11.63 4.0	1.34 2.28 -2.91
بیلی روبین	0.13	8.22 11.37 4.12	8.04 11.57 4.19	-2.19 1.76 1.7

۸) اثر هوک (Hook Effect) :

آزمایش AMH جهت سرمهایی با غلظت بسیار بالا از این آنالیت (تا 1500 ng/ml) صورت گرفت که پدیده هوک مشاهده نشد .

References:

1. Rzeszowska M, Leszcz A, Putowski L, Hałabiś M, Tkaczuk-Włach J, Kotarski J, Polak G (2016). "Anti-Müllerian hormone: structure, properties and appliance". Ginekologia Polska. 87 (9): 669–674.
2. Cate RL, Mattaliano RJ, Hession C, Tizard R, Farber NM, Cheung A, Ninfa EG, Frey AZ, Gash DJ, Chow EP (June 1986). "Isolation of the bovine and human genes for Müllerian inhibiting substance and expression of the human gene in animal cells". Cell. 45 (5): 685–98.
3. Imbeaud S, Faure E, Lamarre I, Mattéi MG, di Clemente N, Tizard R, Carré-Eusèbe D, Belville C, Tragethon L, Tonkin C, Nelson J, McAuliffe M, Bidart JM, Lababidi A, Josso N, Cate RL, Picard JY (December 1995). "Insensitivity to anti-müllerian hormone due to a mutation in the human anti-müllerian hormone receptor". Nature Genetics. 11 (4): 382–8.
4. Taguchi O, Cunha GR, Lawrence WD, Robboy SJ(December1984). "Timing and irreversibility of Müllerian duct inhibition in the embryonic reproductive tract of the human male". Developmental Biology. 106 (2): 394–8.
5. Behringer RR (1994). "The in vivo roles of müllerian-inhibiting substance". Current Topics in Developmental Biology. Current Topics in Developmental Biology. 29: 171–87.
6. Taguchi O, Cunha GR, Lawrence WD, Robboy SJ (December 1984). "Timing and irreversibility of Müllerian duct inhibition in the embryonic reproductive tract of the human male". Developmental Biology. 106 (2): 394–8.
7. Panidis D, Katsikis I, Karkanaki A, Piouka A, Armeni AK, Georgopoulos NA (October 2011). "Serum anti-Müllerian hormone (AMH) levels are differentially modulated by both serum gonadotropins and not only by serum follicle stimulating hormone (FSH) levels". Medical Hypotheses. 77 (4): 649–53.
8. Shen WH, Moore CC, Ikeda Y, Parker KL, Ingraham HA (June 1994). "Nuclear receptor steroidogenic factor 1 regulates the müllerian inhibiting substance gene: a link to the sex determination cascade". Cell. 77 (5): 651–61.
9. Pankhurst MW. A putative role for anti-Müllerian hormone (AMH) in optimising ovarian reserve expenditure. J Endocrinol. 2017 Apr;233(1) R1-R13. doi:10.1530/joe-16-0522. PMID: 28130407.
10. Cheryl E. Dunlop, Richard A. Anderson,Uses of anti-Müllerian hormone (AMH) measurement before and after cancer treatment in women, Maturitas,Volume 80, Issue 3,2015,Pages 245-250,ISSN 0378-5122,
11. Mirte R. Caanen, Remi S. Soleman, Esther A.M. Kuijper, Baudewijntje P.C. Kreukels, Chloë De Roo, Kelly Tilleman, Petra De Sutter, Mick A.A. van Trotsenburg, Frank J. Broekmans, Cornelis B. Lambalk, Antimüllerian hormone levels decrease in female-to-male transsexuals using testosterone as cross-sex therapy,Fertility and Sterility,Volume 103, Issue 5,2015,Pages 1340-1345,ISSN 0015-0282,

تهران، شهرک گلستان، بلوار گلها، خیابان یاس سوم، نبش خیابان یاسمن ، پلاک۱، کد پستی ۱۴۹۴۷۳۴۴۶۳
تلفن ۴۲۱۹۷۰۰۰ (خط ویژه) فکس ۴۲۱۹۷۰۰۷
sms 300071402 info@pishtazteb.com www.pishtazteb.com

CE

روش انجام آزمایش AMH به صورت شماتیک

چاهکهای کوت شده با آنتی بادی ضد AMH			
محلولها	استانداردها	سرم کنترل	نمونه
استانداردها	۵۰ میکرولیتر	–	–
سرم کنترل ها	–	۵۰ میکرولیتر	–
نمونه	–	–	۵۰ میکرولیتر
محلول اسی بافر	۵۰ میکرولیتر	۵۰ میکرولیتر	۵۰ میکرولیتر
پلیت را به ملایمت به مدت ۳۰ ثانیه تکان دهید تا محتویات چاهکها بخوبی مخلوط شوند و سپس دهانه چاهکها را با بر چسب مخصوص پلیت بپوشانید . ۶۰ دقیقه در انکوباتور با دمای ۳۷ درجه سانتی گراد قرار دهید . برچسب پلیت را برداشته و محتویات چاهکها را خالی کنید . طبق دستور شستشو ۵ بار چاهکها را بشویید .			
محلول کونژوگه	۱۰۰ میکرولیتر	۱۰۰ میکرولیتر	۱۰۰ میکرولیتر
دهانه چاهکها را با بر چسب مخصوص پلیت بپوشانید . ۶۰ دقیقه در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد انکوبه کنید . برچسب پلیت را برداشته و محتویات چاهکها را خالی کنید . طبق دستور شستشو ۵ بار چاهکها را بشویید .			
محلول رنگزا	۱۰۰ میکرولیتر	۱۰۰ میکرولیتر	۱۰۰ میکرولیتر
۱۵ دقیقه در دمای اتاق و در تاریکی انکوبه کنید .			
محلول متوقف کننده	۱۰۰ میکرولیتر	۱۰۰ میکرولیتر	۱۰۰ میکرولیتر
جذب نوری چاهکها را در طول موج ۴۵۰ نانومتر (و در صورت امکان ۶۳۰ نانومتر به عنوان فیلتر رفرانس) قرائت کنید .			

تهران، شهرک گلستان، بلوار گلها، خیابان یاس سوم، نبش خیابان یاسمن ، پلاک۱، کد پستی ۱۴۹۴۷۳۴۴۶۳
تلفن ۴۲۱۹۷۰۰۰ (خط ویژه) فکس ۴۲۱۹۷۰۰۷
sms 300071402 info@pishtazteb.com www.pishtazteb.com

ویرایش دوم – اسفند ۹۸

شرکت دانش بنیان
پیشتاز طب زمان
(سهامی خاص)

جدول محتویات کیت

محتویات کیت	فرمت ٤٨ تستی	فرمت ٩٦ تستی
پلیت Plate	1 × 48 Wells	1 × 96 Wells
محلول کونژوگه Conjugate	1×6 ml	1×12 ml
محلول اسی بافر Assay Buffer	1×3 ml	1×6 ml
سری استانداردها Standards Set	7×0.5 ml	7×1 ml
محلول های کنترل سرم بالا و پایین Low and High Control Serum Solutions	2×0.5 ml	2×1 ml
محلول شستشو Wash Solution	1×25 ml	1×50 ml
محلول متوقف کننده Stop Solution	1×6 ml	1×12 ml
محلول رنگزای یک مرحله ای Chromogen - Substrate	1×6 ml	1×12 ml
برچسب مخصوص پلیت Cardboard Sealer	1	1

تهران، شهرک گلستان، بلوار گلها، خیابان یاس سوم، نبش خیابان یاسمن ، پلاک۱، کد پستی ۱۴۹۴۷۳۴۴۶۳
تلفن ۴۲۱۹۷۰۰۰ (خط ویژه) فکس ۴۲۱۹۷۰۰۷
sms 300071402 info@pishtazteb.com www.pishtazteb.com

CE